

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

### INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT (Artikel 36 und Regel 70 PCT)

REC'D 01 NOV 2004

WIRTSCHAFTSABTEILUNG



Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 0000053755	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/PEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/07590	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 14.07.2003	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 18.07.2002
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N9/02		
Anmelder BASF AKTIENGESELLSCHAFT, et al.		

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 7 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.  
  
☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt 9 Blätter.

- Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Bescheids
- II ☐ Priorität
- III ☒ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Regel 66.2 a)ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  18.12.2003	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  29.10.2004
Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde   Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter  Steffen, P  Tel. +49 89 2399-7307  

**I. Grundlage des Berichts**

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):

**Beschreibung, Seiten**

1-49 in der ursprünglich eingereichten Fassung

**Sequenzen, Seiten**

1-10 in der ursprünglich eingereichten Fassung

**Ansprüche, Nr.**

1-26 eingegangen am 30.07.2004 mit Schreiben vom 27.07.2004

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um:

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbaren **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☒ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☒ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung,      Seiten:
- ☐ Ansprüche,        Nr.:
- ☐ Zeichnungen,     Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen.)*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit**

1. Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

☐ die gesamte internationale Anmeldung,

☒ Ansprüche Nr. 17-26

Begründung:

☐ Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht (*genaue Angaben*):

☒ Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen (*machen Sie bitte nachstehend genaue Angaben*) oder die obengenannten Ansprüche Nr. 26 sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):

**siehe Beiblatt**

☒ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. 26 sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.

☒ Für die obengenannten Ansprüche Nr. 17-25 wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.

2. Eine sinnvolle internationale vorläufige Prüfung kann nicht durchgeführt werden, weil das Protokoll der Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenzen nicht dem in Anlage C der Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard entspricht:

☐ Die schriftliche Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

☐ Die computerlesbare Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

**V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

1. Feststellung
- |                                |                        |
|--------------------------------|------------------------|
| Neuheit (N)                    | Ja: Ansprüche 1,8-14   |
|                                | Nein: Ansprüche 2-7,15 |
| Erfinderische Tätigkeit (IS)   | Ja: Ansprüche          |
|                                | Nein: Ansprüche 1-16   |
| Gewerbliche Anwendbarkeit (IA) | Ja: Ansprüche: 1-16    |
|                                | Nein: Ansprüche:       |

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER  
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/07590

---

2. Unterlagen und Erklärungen:

siehe Beiblatt

**Zu Punkt III**

**Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit**

Für Ansprüche 17-25 wurde keine Recherche durchgeführt. Daher ist keine Prüfung gemäß Regel 66.1(e) PCT erforderlich.

Anspruch 26 bezieht sich auf die Verwendung einer nicht näher strukturell definierten Verbindung, die inhibierende oder blockierende Wirkung auf die Aktivität einer NADH-abhängigen Cytochrom b5 Reduktase hat. Keine solche Verbindung ist in der Beschreibung vorgestellt. In der Tat sowie das in den Beispielen gezeigte Antisensekonstrukt inhibierende Wirkung auf die Expression eines solchen Enzyms hat, und das auch lediglich im Fall des Enzyms aus Arabidopsis, so kann aus dieser Tatsache keine Verbindung hergeleitet werden welche die Aktivität des Enzyms im allgemeinen blockiert so in etwa kleine Moleküle seien sie organischer, anorganischer oder biochemischer Natur, Aptamere, Antikörper und viele andere, für die die Beschreibung keinerlei Basis und/oder Offenbarung hergibt. Deshalb handelt es sich hier lediglich um ein Desideratum und Anspruch 26 tut weder Artikel 5 noch Artikel 6 PCT genüge. Es wird daher gemäß Artikel 34(4)(a)(ii) PCT sowie Regel 70.12(iii) PCT auf eine Stellungnahme bezüglich Anspruch 26 verzichtet.

Außerdem erscheint eine Basis nach Artikel 34(2)(b) PCT für Anspruch 26 in der ursprünglich eingereichten Anmeldung im Licht der angegebenen Passagen äußert zweifelhaft. Ein Einwand nach Regel 70(2)(c) PCT erschiene also auch angebracht hier.

**Zu Punkt V**

**Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

D1: FUKUCHI-MIZUTANI MASAKO ET AL: 'Microsomal electron transfer in higher plants: Cloning and heterologous expression of NADH-cytochrome b5 reductase from Arabidopsis' PLANT PHYSIOLOGY (ROCKVILLE), Bd. 119, Nr. 1, Januar 1999 (1999-01), Seiten 353-361, XP002258118 ISSN: 0032-0889 in der Anmeldung erwähnt

- D2: BAGNARESI PAOLO ET AL: 'Tonoplast subcellular localization of maize cytochrome b5 reductases' PLANT JOURNAL, Bd. 24, Nr. 5, Dezember 2000 (2000-12), Seiten 645-654, XP002258119 ISSN: 0960-7412
- D3: BAGNARESI PAOLO ET AL: 'Cloning and characterization of a maize cytochrome-b5 reductase with Fe<sup>3+</sup>-chelate reduction capability' BIOCHEMICAL JOURNAL, Bd. 338, Nr. 2, 1. März 1999 (1999-03-01), Seiten 499-505, XP002258120 ISSN: 0264-6021
- D4: WO 01 38484 A (BASF PLANT SCIENCE GMBH) 31. Mai 2001. (2001-05-31)

Die vorliegende Anmeldung betrifft die Verwendung von NADH Cytochrom b5 Reduktasen als Target für respektive zum Auffinden von Substanzen mit herbizider/wachstumsregulatorischer Wirkung.

Die Ansprüche 2-7 und 15 die sich auf Nukleinsäuren beziehen werden von D1-D3 vorweggenommen, da diese Gene (aus Arabidopsis und Mais) solche sind die aufgrund

a) ihrer Homologie (D1, Datenbanteinträge in Genbank AB007799 und AB007800, Abbildung 1: 79 % Sequenzidentität mit SEQ 3 in 730 Nukleotiden, 90 % Identität in 242 Aminosäuren mit SEQ 4; D2: 77 % Sequenzidentität mit SEQ 3 in 730 Nukleotiden, 87 % Identität in 242 Aminosäuren mit SEQ 4; D3: 78 % Sequenzidentität mit SEQ 3 in 726 Nukleotiden, 85 % Identität in 242 Aminosäuren mit SEQ 4.

und

b) ihrer Eigenschaften d.h. NADH-abhängige Cytochrom b5 Reduktasen,

mit den beanspruchten Genen (d.h. enthaltend einen Teilbereich, funktionelles Äquivalent sowie auch die Sequenzidentitäten etc...) übereinstimmen.

In D1-D3 werden des weiteren die weitere Produkte (Expressionskassette, transgener Organismus etc...) offenbart.

Demnach sind Ansprüche 2-7 und 15 weder neu noch erfinderisch gegenüber D1-D3 und entsprechen nicht den Bestimmungen von Artikel 33(2) PCT sowie Artikel 33(3) PCT.

Ansprüche 1-16 sind nicht erfinderisch. In der Tat offenbaren D1-D4 pflanzliche NADH Cytochrom b5 Reduktasen, sowie heterologe Expression in Hefe- und Pflanzen. Das Protein aus D1 ist identisch mit SEQ 2 aus Anspruch 1. Die Gene und Proteine aus D1-D3

fallen wie oben gesehen unter diejenigen die für die Verwendung als Target für Herbizide bestimmt werden. Mit anderen Worten berufen sich die Verwendungsansprüche auf Gene die nicht neu sind (siehe auch oben). Des weiteren werden in D1-D3 biochemische Eigenschaften bestimmt und die Rolle in der Eisenreduktion (D2 und D3) sowie in der Entsättigung von mikrosomalen Fettsäuren und Sterolprecursor (D1) wird eingehend diskutiert. Aufgrund dieser Daten ist für den Fachmann klar daß es sich in D1-D3 um ein wichtiges metabolisches Enzym handelt. Er würde es dafür ganz natürlich als weiteres Target für ein Herbizid in Betracht ziehen zudem es im Mais auch noch in der Wurzel lokalisiert ist (D2 und D3). Dies muß auch in dem Hintergrund gesehen werden, daß in der Beschreibung kein einziger Modulator des Enzyms vorgestellt wird der tatsächlich herbizid wäre, das heißt für den das Enzym ein Target darstellt. Ansprüche in der vorgestellten Breite d.h. die Verwendung von bekannten Enzymen als Target für Herbizide umfassen, Enzymen von denen natürlicherweise klar war aufgrund ihrer Eigenschaften, daß sie als Target für Herbizide dienen können, scheinen daher im Hintergrund von D1-D4 nicht gewährbar wegen mangelnder erfinderischer Tätigkeit (Artikel 33(3) PCT).

geänderte

50

Patentansprüche

1. Verwendung von einem Polypeptid mit der biologischen Aktivität einer NADH-abhängigen Cytochrom b5 Reduktase kodiert durch eine Nukleinsäuresequenz bestehend aus
- 5
- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO:1 dargestellten Nukleinsäuresequenz; oder
- 10
- b) einer Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung aus der in SEQ ID NO:2 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten läßt; oder
- 15
- c) einer Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung der Aminosäuresequenz eines funktionellen Äquivalents der SEQ ID NO:2, das eine Identität mit der SEQ ID NO:2 von mindestens 39% aufweist, ableiten läßt; oder
- 20
- d) einem funktionellen Äquivalent der Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO:1 mit einer Identität von mindestens 52% zu der SEQ ID NO:1
- als Target für Herbizide.
- zur Identifizierung von Verbindungen mit herbizider Wirkung.*
2. Pflanzliche Nukleinsäuresequenzen kodierend für ein Polypeptid mit der biologischen Aktivität einer NADH-abhängigen Cytochrom b5 Reduktase enthaltend einen Teilbereich umfassend:
- 25
- a) eine Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO:3 dargestellten Nukleinsäuresequenz; oder
- 30
- b) eine Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung aus der in SEQ ID NO:4 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten läßt; oder
- 35
- c) funktionelle Äquivalente der Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO:3 mit einer Identität von mindestens 77% zu der SEQ ID NO:3;
- d) eine Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung der Aminosäuresequenz eines funk-

tionellen Äquivalents der SEQ ID NO:4, das eine Identität mit der SEQ ID NO:4 von mindestens 87% aufweist, ableiten läßt.

- 5 3. Polypeptid mit der biologischen Aktivität einer NADH-abhängigen Cytochrom b5 Reduktase als Target für Herbizide kodiert von einem Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 2.
- 10 4. Verfahren zur Detektion funktioneller Analoga der SEQ ID NO:1:
- 15 a) durch Herstellung einer Sonde gefolgt von anschließenden Durchsuchen einer genomischen oder cDNA Bank der entsprechenden Spezies; oder
- b) einer Computer-Recherche nach analogen Sequenzen in elektronischen Datenbanken.
- 20 5. Expressionskassette umfassend
- a) genetische Kontrollsequenzen in funktioneller Verknüpfung mit einer Nukleinsäuresequenz gemäß Anspruch 2; oder
- 25 b) zusätzliche Funktionselemente; oder
- c) eine Kombination aus a) und b).
- 30 6. Vektor umfassend eine Expressionskassette nach Anspruch 5.
7. Nicht humaner transgener Organismus umfassend mindestens eine Nukleinsäuresequenz kodierend für ein Polypeptid mit der biologischen Aktivität einer NADH-abhängigen Cytochrom b5 Reduktase gemäß Anspruch 2, eine Expressionskassette gemäß Anspruch 5 oder einen Vektor gemäß Anspruch 6 ausgewählt aus Bakterien, Hefen, Pilzen, tierischen oder pflanzlichen Zellen.
- 35 8. Verwendung eines Polypeptid mit der biologischen Aktivität einer NADH-abhängigen Cytochrom b5 Reduktase kodiert durch eine Nukleinsäuresequenz enthaltend
- a) eine Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO:1 dargestellten Nukleinsäuresequenz; oder

- b) eine Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung aus der in SEQ ID NO:2 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten läßt; oder
- 5 c) funktionelle Äquivalente der Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO:1 mit einer Identität von mindestens 52% zu der SEQ ID NO:1;
- 10 d) eine Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung der Aminosäuresequenz eines funktionellen Äquivalents der SEQ ID NO:2, das eine Identität mit der SEQ ID NO:2 von mindestens 39% aufweist, ableiten läßt.

in einem Verfahren zur Identifizierung von Verbindungen mit herbizider Wirkung.

- 15 9. Verfahren zur Identifizierung von Verbindungen mit herbizider Wirkung umfassend die folgenden Schritte:
- i. Inkontaktbringen eines Polypeptides mit der biologischen Aktivität einer NADH-abhängigen Cytochrom b5 Reduktase kodiert durch eine Nukleinsäuresequenz bestehend aus
- 20 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO:1 dargestellten Nukleinsäuresequenz;
- 25 b) einer Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung aus der in SEQ ID NO:2 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten läßt;
- 30 c) einem funktionellen Äquivalent der Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO:1 mit einer Identität von mindestens 52% zu der SEQ ID NO:1; oder
- 35 d) einer Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung der Aminosäuresequenz eines funktionellen Äquivalents der SEQ ID NO:2, das eine Identität mit der SEQ ID NO:2 von mindestens 39% aufweist, ableiten lässt

mit einer oder mehreren Testverbindungen unter Bedingungen, die die Bindung der Testverbindung(en) an die NADH-abhängige Cytochrom b5 Reduktase erlauben; und

40

ii. Nachweis, ob die Testverbindung an die NADH-abhängige Cytochrom b5 Reduktase aus i) bindet; oder

5 iii. Nachweis, ob die Testverbindung die Aktivität der NADH-abhängige Cytochrom b5 Reduktase aus i) reduziert oder blockiert; oder

10 iv. Nachweis, ob die Testverbindung die Transkription, Translation oder Expression der der NADH-abhängige Cytochrom b5 Reduktase aus i) reduziert oder blockiert.

10. Verfahren nach den Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass

15 i. NADH-abhängige Cytochrom b5 Reduktase, die durch eine Nukleinsäuresequenz bestehend aus

a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO:1 dargestellten Nukleinsäuresequenz; oder

20 b) einer Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung aus der in SEQ ID NO:2 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lässt; oder

25 c) einem funktionellen Äquivalent der Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO:1 mit einer Identität von mindestens 52% zu der SEQ ID NO:1; oder

30 d) einer Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung der Aminosäuresequenz eines funktionellen Äquivalents der SEQ ID NO:2, das eine Identität mit der SEQ ID NO:2 von mindestens 39% aufweist, ableiten lässt

nicht-humanen  
35 kodiert wird, entweder in einem transgenen Organismus exprimiert wird oder ein Organismus, der naturgemäß NADH-abhängige Cytochrom b5 Reduktase enthält, kultiviert wird;

40 ii. die NADH-abhängige Cytochrom b5 Reduktase aus Schritt i) im Zellaufschluss des transgenen bzw. nicht transgenen Organismus, in partiell gereinigter Form oder in zur Homogenität gereinigten Form mit einer Testverbindung in Kontakt gebracht wird; und

- iii. eine Testverbindung selektiert wird, welche die Aktivität der NADH-abhängige Cytochrom b5 Reduktase aus Schritt i) reduziert oder blockiert, wobei die Aktivität der mit der Testverbindung inkubierten NADH-abhängige Cytochrom b5 Reduktase mit der Aktivität einer nicht mit einer Testverbindung inkubierten NADH-abhängige Cytochrom b5 Reduktase verglichen wird.
11. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass in Schritt iii) die Aktivität der NADH-abhängige Cytochrom b5 Reduktase photometrisch über den Einsatz von Ferricytochrom b5, Kalium-Ferricyanid, 2,6-Dichlorphenolindophenol, Methemerythrin, p-Benzoquinon oder 5-Hydroxy-1,4-Naphtoquinon als Substrat bestimmt wird.
12. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass es die folgende Schritte umfasst:
- nicht-humanen*
- i. Herstellung eines transgenen Organismus nach Anspruch 7 oder eines transgenen Organismus enthaltend eine Nukleinsäuresequenz kodierend für ein Polypeptid mit der biologischen Aktivität einer NADH-abhängigen Cytochrom b5 Reduktase bestehend aus
- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO:1 dargestellten Nukleinsäuresequenz; oder
- b) einer Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung aus der in SEQ ID NO:2 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lässt;
- c) einem funktionellen Äquivalent der Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO:1 mit einer Identität von mindestens 52% zu der SEQ ID NO:1; oder
- d) einer Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung der Aminosäuresequenz eines funktionellen Äquivalents der SEQ ID NO:2, das eine Identität mit der SEQ ID NO:2 von mindestens 39% aufweist, ableiten lässt,

wobei in dem transgenen Organismus das Polypeptid mit der biologischen Aktivität einer NADH-abhängigen Cytochrom b5 Reduktase überexprimiert wird; und

- 5            ii.    Aufbringen einer Testsubstanz auf den transgenen Organismus nach Anspruch i) und auf einen nicht-transgenen Organismus des gleichen Genotyps;
- 10           iii.    Bestimmen des Wachstums oder der Überlebensfähigkeit des transgenen und des nicht transgenen Organismus nach der Aufbringung der Testsubstanz; und
- 15           iv.    Selektion von Testsubstanzen, die ein vermindertes Wachstum oder eine eingeschränkte Überlebensfähigkeit des nicht-transgenen Organismus bewirken verglichen mit dem Wachstum des transgenen Organismus.
13.    Verfahren nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass es in einem pflanzlichen Organismus oder einer Hefe durchgeführt wird.
- 20    14.    Verfahren zur Identifizierung von Verbindungen mit wachstumsregulatorischer Wirkung, dadurch gekennzeichnet, dass es die folgende Schritte umfasst:
- 25           i.    Herstellung einer transgenen Pflanze enthaltend eine Nukleinsäuresequenz kodierend für ein Polypeptid mit der biologischen Aktivität einer NADH-abhängigen Cytochrom b5 Reduktase bestehend aus
- 30           a)    einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO:1 dargestellten Nukleinsäuresequenz; oder
- 35           b)    einer Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung aus der in SEQ ID NO:2 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lässt;
- c)    einem funktionellen Äquivalent der Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO:1 mit einer Identität von mindestens 52% zu der SEQ ID NO:1; oder
- d)    einer Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung der Aminosäuresequenz

eines funktionellen Äquivalents der SEQ ID NO:2, das eine Identität mit der SEQ ID NO:2 von mindestens 39% aufweist, ableiten lässt;

wobei in der transgenen Pflanze das Polypeptid mit der biologischen Aktivität einer NADH-abhängigen Cytochrom b5 Reduktase überexprimiert wird;

ii. Aufbringen einer Testsubstanz auf die transgene Pflanze nach i) und auf eine nicht-transgene Pflanze der gleichen Sorte;

iii. Bestimmen des Wachstums oder der Überlebensfähigkeit der transgenen und der nicht transgenen Pflanze nach dem Aufbringen der Testsubstanz; und Selektion von Testsubstanzen, die ein verändertes Wachstum der nicht-transgenen Pflanze bewirken verglichen mit dem Wachstum der transgenen Pflanze.

15. Träger, der eines oder mehrere der Nukleinsäuremoleküle nach einem der Ansprüche 1 bis 2, oder eine oder mehrere Expressionskassetten nach Anspruch 5, einen oder mehrere Vektoren nach Anspruch 6, einen oder mehrere Organismen nach Anspruch 7 oder eines oder mehrere (Poly)peptide nach Anspruch 3 aufweist.

16. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass die Identifizierung der Substanzen in einem High-Throughput-Screening durchgeführt wird.

17. Verbindungen mit herbizider Wirkung identifiziert über eines der Verfahren nach den Ansprüchen 9 bis 13 und 16.

18. Verbindungen mit wachstumsregulatorischer Wirkung identifiziert über das Verfahren nach den Ansprüchen 14 und 16.

19. Verfahren zur Herstellung einer agrochemischen Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet dass man

a) eine Verbindung mit herbizider Wirkung über eines der Verfahren nach den Ansprüchen 9 bis 13 und 16 oder eine Verbindung mit wachstumsregulatorischer Wirkung nach den Ansprüchen 14 und 16 identifiziert; und

- b) diese Verbindung zusammen mit geeigneten Hilfsmitteln zu Pflanzenschutzmitteln mit herbizider oder wachstumsregulatorischer Wirkung formuliert.

- 5 20. Verfahren zur Bekämpfung von unerwünschtem Pflanzenwuchs und/oder zur Regulation des Wachstums von Pflanzen, dadurch gekennzeichnet, daß man mindestens eine Verbindung nach Anspruch 17 oder 18 oder eine Zusammensetzung erhältlich über das in Anspruch 19 genannte Verfahren auf Pflanzen, deren Lebensraum und/oder auf Samen einwirken läßt.
- 10 21. Verwendung einer Verbindung nach Anspruch 17 oder 18 oder einer agrochemischen Formulierung erhältlich über das in Anspruch 19 genannte Verfahren in einem Verfahren nach Anspruch 20 zur Bekämpfung von unerwünschtem Pflanzenwuchs und/oder zur Regulation des Wachstums von Pflanzen.
- 15 22. Verfahren zur Erzeugung von Nukleinsäuresequenzen, welche für ein Polypeptid mit der biologischen Aktivität einer NADH-abhängigen Cytochrom b5 Reduktase kodieren, welches durch Substanzen nach Anspruch 17 nicht inhibiert wird; und durch ein funktionelles Äquivalent der Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO:1 mit einer Identität von mindestens 52% zu der SEQ ID NO:1 umfasst werden, dadurch gekennzeichnet, daß es folgende Prozessschritte umfaßt:
- 20 a) Expression des von der Nukleinsäuresequenz gemäß i) kodierten Proteins in einem heterologen System oder in einem zellfreien System;
- 25 b) Randomisierte oder gerichtete Mutagenese des Proteins durch Modifikation der Nukleinsäure;
- 30 c) Messung der Interaktion des veränderten Genprodukts mit dem Herbizid;
- d) Identifizierung von Derivaten des Proteins die eine geringere Interaktion aufweisen;
- 35 e) Testung der biologischen Aktivität des Proteins nach Applikation des Herbizides; und
- f) Auswahl der Nukleinsäuresequenzen, die eine veränderte biologische Aktivität gegenüber dem Herbizid aufweisen.

23. Verfahren nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, daß die gemäß Anspruch 22 f) ausgewählten Sequenzen in einen Organismus eingebracht werden.

nicht-humane

24. Verfahren zur Erzeugung transgener Pflanzen, die gegen Substanzen nach Anspruch 17 resistent sind, dadurch gekennzeichnet, daß in diesen Pflanzen eine Nukleinsäuresequenz codierend für ein Polypeptid mit der biologischen Aktivität einer NADH-abhängigen Cytochrom b5 Reduktase, welche

- a) eine Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO:1 dargestellten Nukleinsäuresequenz; oder
- b) eine Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung aus der in SEQ ID NO:2 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten läßt; oder
- c) eine Nukleinsäuresequenz, die sich aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung der Aminosäuresequenz eines funktionellen Äquivalents der SEQ ID NO:2, das eine Identität mit der SEQ ID NO:2 von mindestens 39% aufweist, ableiten läßt; oder
- d) ein funktionelles Äquivalent der Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO:1 mit einer Identität von mindestens 52% zu der SEQ ID NO:1

umfasst, überexprimiert wird.

25. Transgene Pflanze hergestellt nach einem Verfahren gemäß Anspruch 24.

26. Verwendung von Verbindungen mit inhibierender oder blockierender Wirkung auf die Aktivität einer NADH-abhängigen Cytochrom b5 Reduktase zur Bekämpfung unerwünschten Pflanzenwachstums und/oder zur Regulation des Wachstums von Pflanzen.